

高效液相色谱测定水中的苯并芘

高永胜 高龙飞 马 芮 梁增英 舒熊威 朱 晶
中国石化塔河炼化质检中心环境监测站 新疆 阿克苏 842000

摘要：本文研究了高效液相色谱（HPLC）法在测定水中苯并芘的应用。苯并芘是一种强致癌物质，广泛存在于环境中，对人体健康构成严重威胁。因此，准确、快速地测定水中苯并芘的含量对于环境保护和人体健康监测具有重要意义。本文介绍了高效液相色谱法的原理、操作步骤、优化条件以及方法验证，为水中苯并芘的测定提供了一种可靠的分析手段。

关键词：高效液相色谱法；苯并芘；水质分析；环境监测

1 引言

苯并芘是一种典型的多环芳烃化合物，常见于石油化工、焦化、炼油等工业生产过程中，也可由汽车尾气等燃烧排放产生。由于其强烈的致癌性和毒性，苯并芘被列为环境中的重点监测质之一。

水是苯并芘的重要传介质之一，因此，对水样中苯并芘含量的快速准确检测具有重要意义。高效液相色谱法因其高灵敏度、高分辨率和广泛的应用范围，在苯并芘的测定中得到了广泛应用。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

实验所用仪器主要包括高效液相色谱仪岛津LC-20AT（包含自动进样器、荧光检测器、色谱柱等）和用于样品前处理的分液漏斗、氮吹仪等。试剂包括苯并芘标准品、甲醇、乙腈等有机溶剂，以及用于样品过滤的滤头、注射器等材料。高效液相色谱（HPLC）是一种分离和分析化合物的高效方法，具有以下特点和使用注意事项：

2.1.1 特点

高效性：HPLC能够在较短的时间内完成分析，具有高分辨率和高灵敏度。

灵活性：可以用于分离和分析各种化合物，包括有机、无机、生物分子等。

准确性：提供准确的定量和定性分析结果。

选择性：可以通过调整流动相和固定相来实现对不同化合物的选择性分离。

自动化：现代HPLC系统通常具有自动化功能，可提高分析效率并减少操作人员的干预。

2.2 使用注意事项

流动相：选择合适的流动相是关键。流动相的成分和性质应该与待分析化合物相容，并且要避免与固定相发生反应。

固定相：固定相的选择取决于待分离的化合物特性。应根据样品的极性、分子大小等因素选择合适的固定相。

样品处理：样品应该被适当处理和准备，以确保分析结果的准确性和重现性。

操作条件：包括流速、温度、压力等参数的设置应根据实验要求和仪器的性能来调整。

维护保养：定期维护和校准仪器是保证分析准确性的重要步骤，包括清洗、更换柱子、校准流速等。

综上所述，合理选择和操作HPLC系统能够实现高效、准确、可靠的化合物分析。

2.3 样品处理

水样参考国家环境保护标准HJ 478—2009“5样品”中样品的采集及保存方法。^[1]

水样的初步处理：首先，从水样中取500毫升放入1升容量的分液漏斗中，以氯化钠作为助剂，加入少量并充分混合，以促进杂质的分离。

萃取过程：使用90毫升正己烷进行三次萃取，每次使用30毫升。将混合物置于振荡器上，以确保充分混合5分钟，期间需注意释放因振摇产生的气体。

分层与分离：待混合物静置分层后，将有机层通过装有干燥剂无水硫酸钠的漏斗过滤，以去除水分，并将过滤后的有机相收集到150毫升的氮吹瓶中。

浓缩与定容：将三次萃取得到的有机相合并，使用氮吹仪将其浓缩至0.5毫升，然后使用乙腈进行定容至1.0毫升，以供高效液相色谱（HPLC）分析使用。

进一步净化：对于基体较为复杂的水样，如地表水和废水，需要采取额外的净化措施。具体的净化方法会根据水样的具体特性而有所不同，以确保分析结果的准确性和可靠性。净化方法如下：

将水样的萃取液经旋转蒸发器浓缩至1mL，将浓缩

液及样品容器洗涤液全部转移到预先用正己烷溶液10mL活化后的硅胶小柱上,用二氯甲烷/正己烷(1+1)溶液20mL淋洗,淋洗液浓缩至0.5~1mL,加乙腈3mL,氮吹仪浓缩至0.5mL,最后用乙腈准确定容到1.0mL,供HPLC分析。^[2]

2.4 色谱条件

选用合适的色谱柱和流动相,优化色谱条件,以实现苯并芘的高效分离和检测。流动相一般采用甲醇-水体系,在进行色谱分析时,优化实验条件是实现目标化合物最佳分离的关键。

流动相的配比:通过调整甲醇和水的比例至80:20,以获得最佳的分离效果。

柱温的设定:将色谱柱的温度设定在35℃,以优化分子在柱内的扩散和相互作用。

进样量的控制:使用10微升的进样量,以确保分析的重复性和准确性。

流速的调节:将流动相的流速设定为1.0毫升/分钟,以保证分离过程的稳定性和效率。

荧光检测器的参数设置:在荧光检测器中,设置激发波长为290纳米,发射波长为430纳米,以确保对特定化合物的灵敏检测。

通过这些调整,可以确保色谱分析过程中目标化合物的高效分离和准确检测,从而为实验结果提供可靠的数据支持。

2.5 标准曲线绘制与样品测定

用苯并芘标准品配制不同浓度的标准溶液,通过高效液相色谱法测定其峰面积,绘制标准曲线。

设定稀释后苯并芘溶液的浓度分别为1.00μg/L、5.00μg/L、10.0μg/L、20.0μg/L和50.0μg/L,根据初始标准溶液的浓度和目标浓度,计算出稀释时所需取样的体积。选择乙腈作为稀释剂,因为它与苯并芘具有良好的相容性。从较高浓度的标准溶液开始,通过逐步添加乙腈来降低溶液浓度。在分离色谱条件(本文2.4节)下进行测定,重复进样3次,取平均值。

表1 不同浓度苯并芘对应的峰面积

浓度	面积1	面积2	面积3	平均面积
1.00	241981	243828	245063	243624
5.00	657860	672869	674396	668375
10.0	1398303	1397246	1398489	1398013
20.0	2869735	2855755	2869735	2865075
50.0	7108542	7146548	7278735	7177942

浓度和平均面积绘制标准曲线:

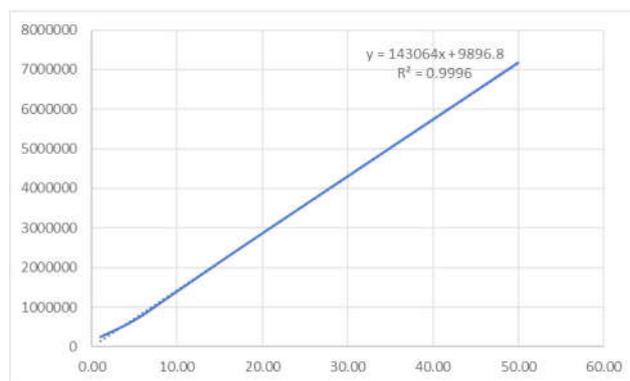


图1 苯并芘测定标准曲线

曲线相关系数为:0.9996,符合检验标准,将预处理后的水样(本文2.3节)进样测定,按式(1)计算样品中多环芳烃的质量浓度。

$$\rho_i = \frac{\rho_{xi} \times V_1}{V} \quad (1)$$

式中: ρ_i ——样品中组分i的质量浓度,μg/L;

ρ_{xi} ——从标准曲线中查得组分i的质量浓度,μg/L;

V_1 ——萃取液浓缩后的体积,ml;

V ——水样体积,ml。

3 结果与讨论

3.1 方法优化

通过对色谱条件的优化,如改变流动相组成、流速和柱温等,获得了苯并芘的最佳分离效果。同时,根据HJ168-2020《环境监测分析方法标准制订技术导则》^[3]计算方法检出限,由于空白中不含苯并芘,因此将5.0μg/L的标样稀释10倍重复测定7次,根据7次测定的结果计算标准偏差S,检出限MDL = S×3.143,用4倍检出限的方法本方法的测定下限。

表2 方法检出限测定表

测定次数	测定结果(μg/L)
1	0.48
2	0.49
3	0.49
4	0.50
5	0.52
6	0.50
7	0.49

由上表计算得出S=0.0127,则该曲线MDL=S×3.143,结果为0.040μg/L。由公式(1)计算出实际测定过程中的检出限为0.040×1÷500=0.00008μg/L,方法测定下限为0.00032μg/L。远低于(HJ 478—2009)《水质 多环芳烃的测定》中的检出限0.004μg/L和(GB5750.8—2023)《生活饮用水标准检验方法》^[4]中的检出限1.4ng/L,能完

全满足水质环境标准和水质卫生标准的分析要求。同时满足GB31570—2015《石油化学工业污染物排放标准》^[5]中苯并芘排放限值0.00003mg/L的检测要求。

3.2 方法验证

在科学研究和分析化学中，验证方法的有效性是至关重要的。通过进行重复性实验和加标回收实验验证方法的有效性。

3.2.1 重复性实验

取10.0μg/L的表样，分批次重复8次。结果如下：

表3 重复性实验数据

分析日期	结果(μg/L)	平均值(μg/L)
4月28日	9.67	9.68
4月28日	9.68	
4月28日	9.70	
4月28日	9.68	
4月30日	9.78	9.79
4月30日	9.80	
5月02日	9.88	9.90
5月02日	9.91	
偏差	8.90%	
相对标准偏差	9.51%	

从上表可以看出偏差和相对偏差均小于10%。重复性较好。满足实验要求。

3.2.2 加标回收

对两种水样均未检出苯并芘的水样1和水样2进行加标回收实验。取分别1.00mL的1.00mg/L的苯并芘标样加入500mL水样1和500mL水样2中；测定其结果：

表4 加标回收实验数据

名称	水样1	水样2
加标后结果1	1.98	1.96
加标后结果2 (μg/L)	1.94	1.92
平均值	1.96	1.94

通过计算水样1的加标回收率为98%；水样2的加标回收率为97%。完全符合（HJ 478—2009）《水质 多环芳烃的测定》的要求。

3.3 实际样品测定

将本方法应用于实际水样中苯并芘的测定，结果如下：

表5 实际水样测定数据

水样名称	冷焦水	自来水
仪器结果 (μg/L)	0.15	0
水样结果 (μg/L)	0.0003	未检出
水样结果 (μg/L)	0.0003	未检出

得到了满意的结果。

结束语

本文采用高效液相色谱法测定了水中的苯并芘含量，通过优化色谱条件和固相萃取条件，提高了方法的灵敏度和准确度。实验结果表明，本方法展现了卓越的重复性和可靠性，非常适合于对水中的苯并芘进行迅速且精确的测量。通过实际水样的测定，为环境监测和污染控制提供了有力支持。

参考文献

- [1]HJ 478-2009,水质.多环芳烃的测定.液液萃取和固相萃取高效液相色谱法[S].
- [2]李敏,蔡伊莎,韩宝武,等.高效液相色谱法测定水中痕量苯并芘的研究[J].四川环境,2015,34(04):71-74.
- [3]HJ 168-2020,环境监测.分析方法标准制修订技术导则[S].
- [4]GB/T 5750.8-2023,生活饮用水标准检验方法 第8部分:有机物指标[S].
- [5]GB 31571-2015,石油化学工业污染物排放标准[S].